

1020 RECEIVED 23 SEP 2005

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicant : Rudolf FAHRIG et al.

Mail Stop PCT

Appl. No. : Not Yet Assigned (National Phase of PCT/EP2003/013008)

I.A. Filed : November 20, 2003

For : USE OF 5-SUBSTITUTED NUCLEOSIDES FOR REINFORCING THE
APOPTOTIC EFFECT OF CYTOSTATIC DRUGS

CLAIM OF PRIORITY

Commissioner for Patents
U.S. Patent and Trademark Office
Customer Service Window, Mail Stop PCT
Randolph Building
401 Dulany Street
Alexandria, VA 22314

Sir:

Applicant hereby claims the right of priority granted pursuant to 35 U.S.C. 119 and 365 based upon German Application No. 103 13 035.7, filed March 24, 2003. The International Bureau already should have sent a certified copy of the German application to the United States designated office. If the certified copy has not arrived, please contact the undersigned.

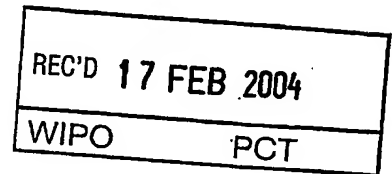
Respectfully submitted,
Rudolf FAHRIG et al.

Neil F. Greenblum
Reg. No. 28,394

September 23, 2005
GREENBLUM & BERNSTEIN, P.L.C.
1950 Roland Clarke Place
Reston, VA 20191
(703) 716-1191

Arnold Turk
Reg. No. 33,094

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)



**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen:

103 13 035.7

Anmeldetag:

24. März 2003

Anmelder/Inhaber:

RESprotect GmbH, Dresden/DE

Bezeichnung:

Methode zur Verstärkung der apoptotischen
Wirkung von Zytostatika ohne Erhöhung
toxischer Nebenwirkungen

IPC:

A 61 K, A 61 P

**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**

München, den 28. November 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Letang

Pfenning, Meinig & Partner GbR

Patentanwälte
European Patent Attorneys
European Trademark Attorneys
Dipl.-Ing. J. Pfenning (-1994)
Dipl.-Phys. K. H. Meinig (-1995)
Dr.-Ing. A. Butenschön, München
Dipl.-Ing. J. Bergmann*, Berlin
Dipl.-Chem. Dr. H. Reitzle, München
Dipl.-Ing. U. Grambow, Dresden
Dipl.-Phys. Dr. H. Gleiter, München
Dr.-Ing. S. Golkowsky, Berlin
*auch Rechtsanwalt

80336 München, Mozartstraße 17

Telefon: 089/530 93 36

Telefax: 089/53 22 29

e-mail: muc@pmp-patent.de

10719 Berlin, Joachimstaler Str. 10-12

Telefon: 030/88 44 810

Telefax: 030/88136 89

e-mail: bln@pmp-patent.de

01217 Dresden, Gostritzer Str. 61-63

Telefon: 03 51/87 18 160

Telefax: 03 51/87 18 162

e-mail: dd@pmp-patent.de

München,
24. März 2003
Zytost./WK

RESprotect GmbH
Fiedlerstraße 34
01307 Dresden

Methode zur Verstärkung der apoptotischen Wirkung von
Zytostatika ohne Erhöhung toxischer Nebenwirkungen

Methode zur Verstärkung der apoptotischen Wirkung von Zytostatika ohne Erhöhung toxischer Nebenwirkungen

Zusammenfassung der Erfindung

Die Erfindung besteht aus einer Methode, die Sensitivität von Tumoren gegenüber Zytostatika über einen langen Behandlungszeitraum zu erhalten. Hierbei werden gleichzeitig unspezifische toxische Nebenwirkungen erniedrigt.

Die Erhaltung der Sensitivität wird durch Erhaltung und Verstärkung der apoptotischen Wirkung von Zytostatika erreicht. Dieser Effekt beruht

1. auf der Hemmung der Zytostatika induzierten Überexpression des Zellproliferationsgens DDX1
2. auf der Hemmung der Zytostatika induzierten Überexpression von DNA-Reparaturgenen (UBE2N oder APEX),
3. auf der Hemmung der Zytostatika induzierten Überexpression von Onkogenen (STAT3 oder JUN-D),
4. auf der Hochregulierung von mikrofilament- oder mikrofilament-regulatorischen Proteinen (Actin, Tubulin, Myosin oder Tropo-Modulin),
5. auf der Herunterregulierung von Proteinen, die in ATP Generierung involviert sind (Succinat Dehydrogenase oder Pyruvat Dehydrogenase).

Die Erniedrigung toxischer Nebenwirkungen wird durch die gleichzeitige Erhöhung der DT-Diaphorase Aktivität erreicht.

Erreicht wird die Wirkung durch folgendes Behandlungsschema. Zunächst erfolgt die Gabe eines Basenanalogs parallel zu der eines Zytostatikums. Diese Behandlung entspricht der im Patent EP 0 806 956 B1 „Verwendung von 5'-substituierten Nukleosiden zur Hemmung von Resistenzbildung bei der Zytostatikabehandlung“ beschriebenen Behandlung. Diese Behandlung hemmt die Bildung von Genamplifikation. Im Anschluss an die Chemotherapie, in der Erholungsphase („recovery phase“ nach Ende der Kobehandlung) wird die Behandlung mit der alleinigen Gabe eines Basenanalogs fortgesetzt. Diese Behandlungsmethode, mit welcher der Behandlungserfolg entscheidend verbessert wird, ist Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Durch Zufall wurde entdeckt, dass sich die Wirkung von 5'-substituierten Nukleosiden, d.h. von Basenanaloga, dadurch erheblich verstärken lässt, dass das Basenanalogon nach Absetzen der Zytostatikabehandlung weiter appliziert wird. In dieser „Erholungsphase“ üben bestimmte Basenanaloga eine starke Wirkung auf die Expression von für das Krebsgeschehen relevanter Gene aus. Diese Wirkung geht einher mit einer im Vergleich zur reinen Zytostatikabehandlung verstärkten Apoptose. Für sich allein gegeben, induzierten die Basenanaloga keine Apoptose. Ein synergistischer Effekt scheidet deshalb aus.

Apoptose ist eine Form des programmierten Zelltods. Die Apoptose ist im Gegensatz zur Nekrose eine physiologische Form des Zelltods. Anhand von Unterschieden zwischen Nekrose und Apoptose lassen sich diese beiden Formen des Zelltods differenzieren. Apoptose hat definierte morphologische und biochemische Charakteristika, die als Ereignisse einer geordneten Kaskade nacheinander ablaufen. Der kontinuierliche Prozess lässt sich in Phasen einteilen. Morphologische

Kennzeichen der Apoptose sind Kernchromatinkondensation (Karyopyknosis), Schrumpfung des Zytoplasma, Formierung apoptotischer Bläschen und schließlich apoptotischer Körper.

Die Wirkung von Zytostatika beruht hauptsächlich auf der Stimulation von Apoptose. Ein wesentlicher Bestandteil der Erfindung es, die durch Resistenzbildung bedingte Abnahme der apoptotischen Wirkung zu verhindern oder zumindest zu verzögern.

Hintergrund der Erfindung

Krebserkrankungen sind beim Menschen eine der häufigsten Todesursachen und die Chemotherapie ist die häufigste Behandlungsmethode. Die unzureichenden Heilungschancen durch Chemotherapie beruhen auf dem Auftreten von Resistenzen. Diese Resistenzen haben ihre Ursache darin, dass Zytostatika die Expression von Genen beeinflussen und genotoxisch wirken, also Mutationen, Genamplifikationen und Rekombinationen induzieren und somit das Genom instabilisieren. Auf diese Weise induziert oder selektiert Chemotherapie resistente Krebszellen. Von solchen durch Zytostatika induzierten Wirkungen sind oft Onkogene wie z.B. *Ras*, *Bcl2*, *Bcr-abl*, *Myc*, *ErbB2*, und andere betroffen. Zur Chemoresistenz trägt auch die fehlregulierte Expression von Genen, die etwas mit DNA-Reparatur und Rekombination zu tun haben, bei (z.B. p53 Gen, *BRCA1/2*, *UBE2N*, *APEX* und *Rad51*). Weiterhin Enzyme, die Zytostatika metabolisieren und bioaktivieren (z.B. DHFR, DT-diaphorase (DT-D), oder Proteine, die Zytostatika transportieren (z.B. MDR1).

Die meisten Zytostatika eliminieren Tumorzellen dadurch, dass sie Apoptose induzieren. Tumorzellen können dies durch eine Überaktivierung von Überlebens-Mechanismen verhindern. Mechanismen der Chemoresistenz umfassen also auch anti-apoptotisch wirkende Gene wie z.B. STAT3, den aktivierten „signal transducer and activator of transcription 3“ oder JUN-D.

Erfindung

1995 wurden bis dahin unbekannte Wirkungen bestimmter Hormone und 5-substituierter Nukleoside entdeckt. So unterdrückten diese die 2-Amino-6-Mercaptopurin (AMP)-induzierte SV40 Amplifikation in Zellen des Chinesischen Hamsters, und die Triethylenmelamin induzierte Rekombination in Hefen. Die Entdeckung, dass Behandlung von Leukämiezellen der Maus mit 5-substituierten Nukleosiden die Doxorubicin (Adriamycin) induzierte *Mdr1* Genamplifikation und Chemoresistenz hemmt, führte zum Patent EP 0 806 956 B1.

In den bis dahin durchgeführten *In vitro*-Untersuchungen waren 5-substituierte Nukleoside (d.h. Basenanaloga) immer zusammen mit einem oder mehreren Zytostatika appliziert worden. Zufällig ließen wir einmal die Zellen am Ende eines Versuches allein mit dem Basenanalogon BVDU weiterwachsen. Zu unserer Überraschung hatte sich der BVDU-Effekt verstärkt, anstatt nachzulassen. Somit ergab sich, wie in Beispiel 1 dargestellt, folgende neue Situation:

Basenanaloga, für sich allein gegeben, keine Wirkung
Basenanaloga, zusammen mit einem Zytostatikum gegeben, Wirkung

Basenanaloga, für sich allein gegeben, nachdem sie zuvor zusammen mit einem Zytostatikum gegeben worden waren (Erholungsphase), verstärkte Wirkung.

Die Wirkung, d.h. die Hemmung von Chemoresistenz und Erhöhung der Chemosensitivität, lässt sich als atoxische Aufrechterhaltung Zytostatika induzierter Apoptose durch Beeinflussung der Genexpression bestimmter Gene beschreiben. Dies geschieht

1. Durch Blockade von "survival pathways" in der Erholungsphase (recovery).
2. Durch Blockade von DNA-Reparatur assoziierten Enzymen.
3. Durch Induktion von DT-Diaphorase Aktivität.
4. Durch reduzierte Expression ATP-generierender Enzyme in der Erholungsphase.

Zu 1) Basenanaloga wie BVDU blockieren "survival pathways" vorrangig in der Erholungsphase der Kobehandlung nach Absetzen der Zytostatika und erzwingen dadurch den Ablauf der Apoptose.

Mittels HOPI Doppelfärbung von AH13r Tumorzellen der Ratte konnte nachgewiesen werden, dass Zytostatika wie Doxorubicin (DOX), Mitoxantron (MXA) oder Mitomycin C (MMC) Apoptose auslösen. Kobehandlung mit dem Basenanalogon (E)-5-(2-bromovinyl)-2'-deoxyuridine (BVDU) fördert die Apoptose durch Blockade anti-apoptotischer „survival pathways“, die STAT3 und JUN-D umfassen.

Dieser Effekt tritt erst in der Erholungsphase (recovery phase) der Zellen auf, wie in Beispiel 2 zu sehen ist.

Konstitutiv aktiviertes *Stat3* wirkt onkogen und trägt zur Entwicklung verschiedener menschlicher Krebserkrankungen bei. Dies geschieht durch Hemmung von Apoptose. Auf diese Weise erleichtert STAT3 das Überleben von Tumorzellen und macht Zellen resistent gegenüber einer Chemotherapie. Dementsprechend induziert die Hemmung des "Stat3-signaling" Apoptose und erhöht die Sensitivität gegenüber Zytostatika.

Jun-D, ein Mitglied der *Jun* Genfamilie, ist ein essentieller Bestandteil des „activating protein-1“ (AP-1) Transkription Faktor Komplexes mit allgegenwärtiger Expressivität. *Jun-D*^(-/-) primäre Fibroblasten zeigen vorzeitige Alterung und erhöhte Apoptose nach UV-Bestrahlung oder TNF α -Behandlung. Dieses Resultat lässt vermuten, dass JUN-D den „NF κ B survival pathway“ aktiviert. Darüber hinaus macht p202, welches direkt durch JUN-D reguliert wird, Fibroblasten widerstandsfähiger gegenüber Apoptose.

Kobehandlung durch BVDU reduzierte die Expression beider JUN-D Isoformen um etwa ein Viertel. Demgegenüber war STAT3 in der Erholungsphase (recovery phase) um etwa zwei Drittel herunter reguliert. (Beispiel 2).

Besonders eindrucksvoll ist der Effekt in der Erholungsphase nach Kobehandlung mit Mitomycin C. Hier reduziert das Basenanalogon die Überexpression des Onkogens *JUN-D* auf das Kontrollniveau (Beispiel 2).

Zu 2) Basenanaloga wie BVDU blockieren DDX1. *DDX1* ist coamplifiziert mit *MYCN* und überexprimiert in Neuroblastoma (NB) und Retinoblastoma Zelllinien und Tumoren. NB Patienten mit Amplifikation von sowohl *DDX1* als auch *MYCN* haben eine schlechtere Prognose als Patienten mit nur *MYCN* Genamplifikation. DDX1 hat deshalb onkogenes Potential.

Kombibehandlung von MMC mit BVDU reduziert die Überexpression von UBE2N und APEX um etwa zwei Drittel. Modifikationen von UBE2N beeinflussen die Resistenz gegenüber DNA-Schäden. APEX Nuklease ist ein DNA Reparatur Enzym. Blockade der APEX Expression verdoppelte die Zelllyse und erhöhte DNA Brüche.

Zu 3) BVDU induziert DT-Diaphorase (Beispiel 3). Diese besitzt zwei für die Chemotherapie wichtige Eigenschaften. Sie aktiviert zum einen Zytostatika aus der Klasse der Chinone und reduziert zum anderen unspezifische toxische Effekte, die auf der Entstehung reaktiver Sauerstoffspezies beruhen.

Der Ausfall des *DT-D* Gens führt durch reduzierte p53 and p73 Expression zu myeloischer Hyperplasie und dementsprechend zu reduzierten Apoptose-Raten. Dies stimmt mit der Beobachtung überein, dass ein multifaktorieller „multidrug resistance“ Phänotyp von Tumorzellen einen Abfall und keinen Anstieg der DT-Diaphorase Expression beinhaltet. Interessanterweise stabilisiert die DT-D Enzym Aktivität auch die Lymphozyten-Populationen. Dieser Effekt könnte sich günstig auf die Stabilisierung des Immunsystems der Patienten während der Chemotherapie auswirken.

Viele Zytostatika wie z.B. DOX and MXA, stören den Redox Status und die mitochondriale Atmung der Krebszelle. Dies führt zur Erzeugung reaktiver Sauerstoff Spezies (ROS). Betroffen von der plötzlichen Anhäufung an ROS ist nicht nur die Krebszelle, sondern auch alle anderen Zellen, wodurch unerwünschte Nebenwirkungen bei der Chemotherapie auftreten.

DT-D inaktiviert ROS und schützt so Zellen vor unspezifischen ROS- und elektrophilen Attacken. Als Indiz für diese Wirkung von BVDU auf die Minderung unerwünschter Nebenwirkungen bei der Chemotherapie seien in Beispiel 4 die Gewichtszunahme von Doxorubicin + BVDU-behandelten Ratten aufgeführt. DOX Alleinbehandlung führt wegen der toxischen Nebenwirkungen zu Gewichtsabnahmen. Sicher ist, dass durch BVDU nur die Nebenwirkungen (möglicherweise die für DOX charakteristische Kardiotoxizität) vermindert werden, nicht jedoch die toxischen Wirkungen auf den Tumor.

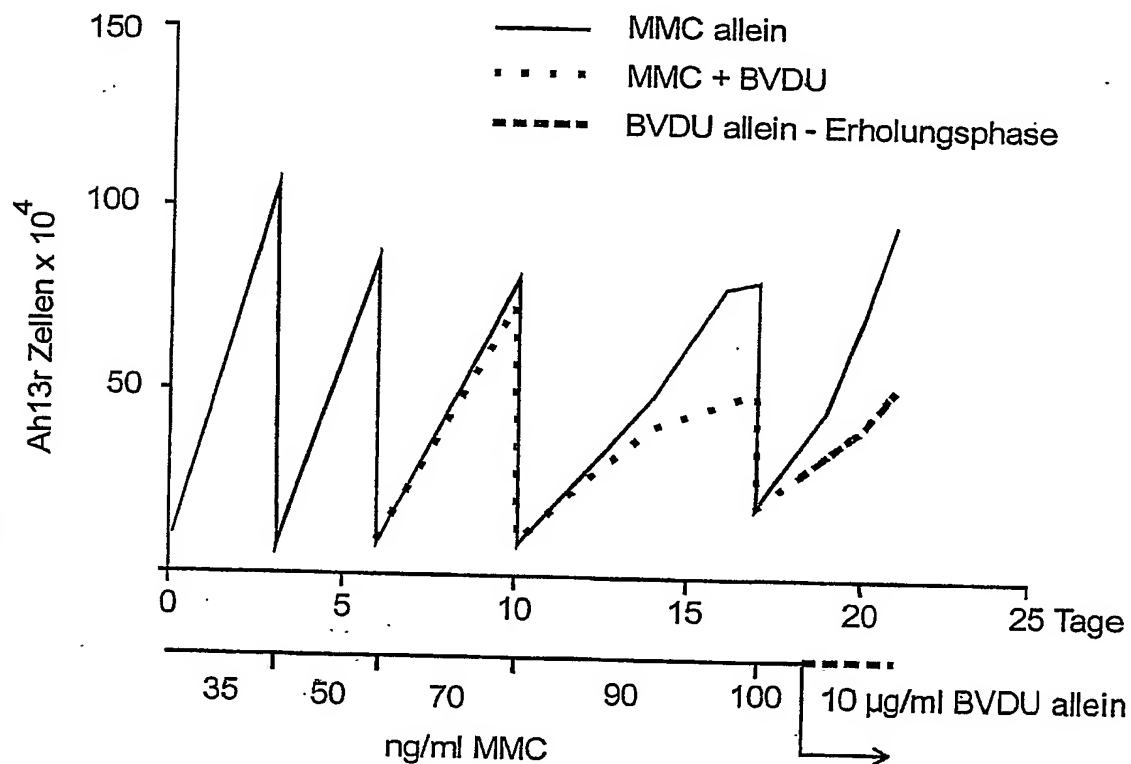
Zu 4) Durch veränderte Expression verschiedener Enzyme in der Erholungsphase wird die zytostatische Wirkung auch in Abwesenheit eines Zytostatikums aufrechterhalten. Wie in Beispiel 5 zu sehen ist, wird die Expression von acht Genen erhöht, die von sechs Genen erniedrigt. Die Genprodukte beeinflussen die Formation von Mikrofilamenten, die Differenzierung, die Signal Transduktion und die ATP Generierung.

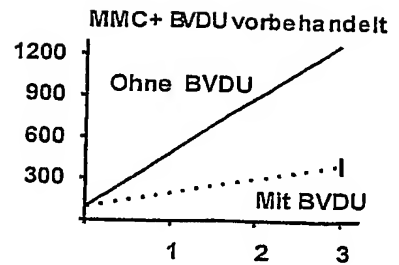
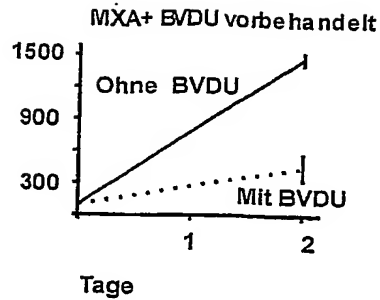
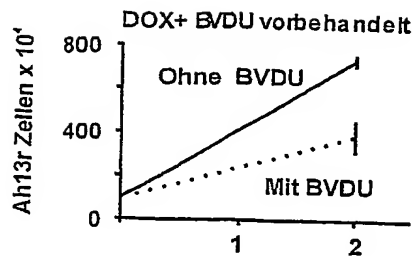
Beispiele

Beispiel 1:

BVDU-Behandlung erhöht die Empfindlichkeit von AH13r Sarkomzellen gegenüber Chemotherapie-induzierter Apoptose. Diese Wirkung bleibt auch nach Absetzen des Zytostatikums in der s.g. Erholungsphase (recovery) bestehen.

AH13r-Zellen wurden steigende Dosen des Zytostatikums Mitomycin C (MMC) ausgesetzt. BVDU, für sich allein gegeben, zeigte keine toxische Wirkung. MMC+BVDU-Behandlung führte nach drei Behandlungszyklen zur Verringerung der Zellzahl im Vergleich zur Behandlung mit MMC allein. Diese Hemmwirkung blieb auch nach Absetzen des Zytostatikums im nächsten Zyklus, in der s.g. Erholungsphase (recovery) bestehen. Die Zellen ohne MMC und BVDU wuchsen ungehemmt weiter. Diejenigen jedoch, die weiterhin BVDU erhielten, wurden in ihrem Wachstum stark gehemmt.



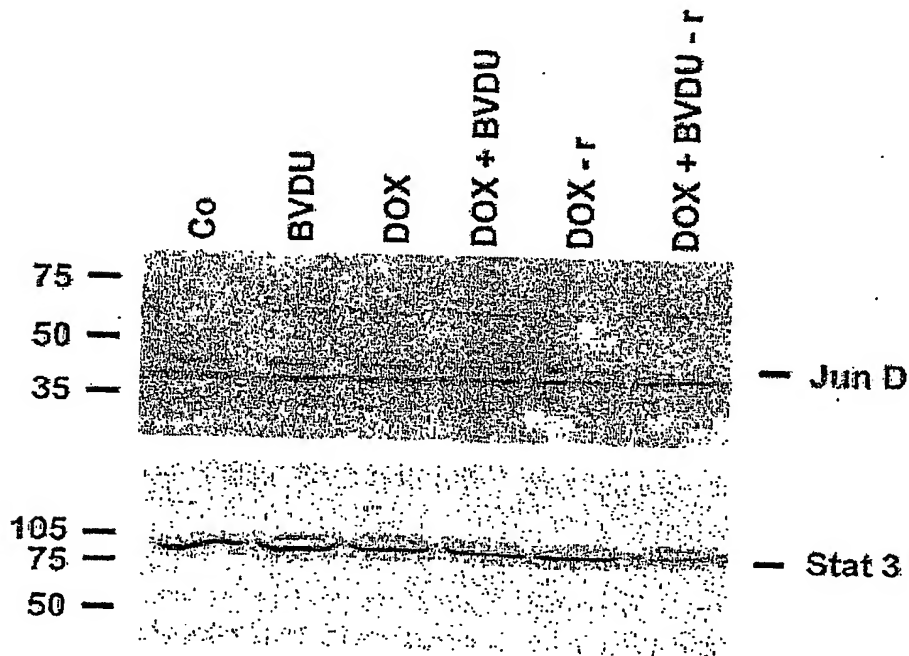


Entsprechende Resultate wurden mit Methotrexat (MTX), Doxorubicin (DOX) und Mitoxantron (MXA) auch bei Einsatz menschlicher Tumorzellen erzielt.

Der Nachweis, dass die Verringerung der Zellzahl auf Apoptose beruht, wurde mittels Hoechst 33258 / Propidiumiodid (Hopi) Doppelfärbung nachgewiesen (Grusch et al., 2001).

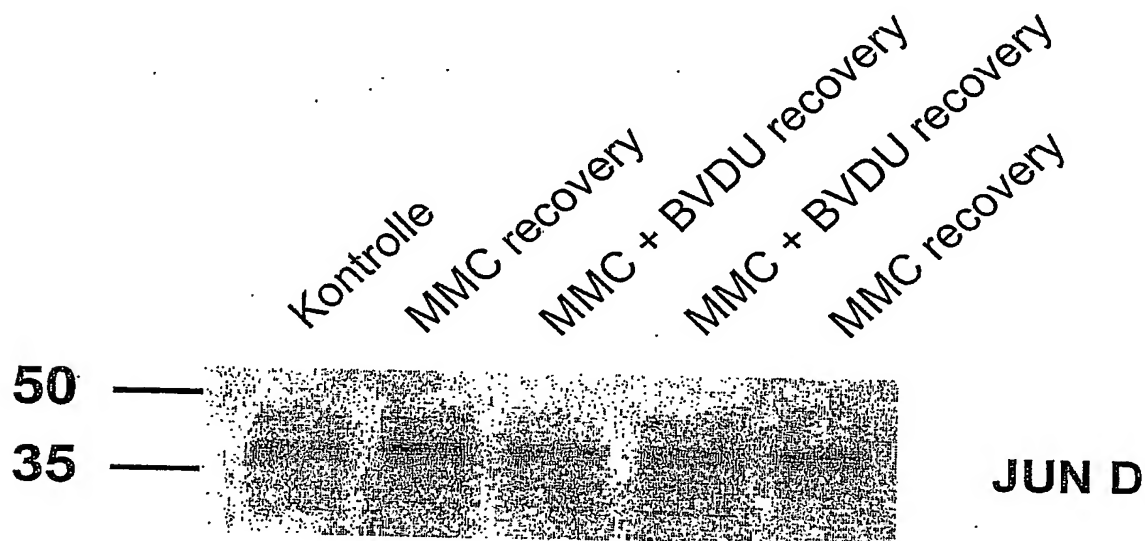
Beispiel 2:

Wir untersuchten verschiedene „survival pathways“ mittels Western Blot Analyse. Die Analysen wurden nach Standardmethoden durchgeführt (Sambrook & Russell, 2001). Antikörper Verdünnungen: P-STAT3 (Cell Signaling) 1:500, JUN-D (Santa Cruz, California) 1:1,000. Die obere der beiden JUN-D Banden zeigt die „full length isoform“ und die untere Bande die „truncated isoform“, die 48 Aminosäuren kürzer ist. Beide Isoformen können die Transkription aktivieren, die „full length“ Variante ist jedoch effektiver als die „truncated“ Isoform.



Der densitometrisch ermittelte Gehalt an Onkogen-Proteinen JUN-D and STAT3 war nach DOX-Behandlung in der Erholungsphase (r = recovery phase) um ein Viertel bzw. zwei Drittel reduziert. In der „recovery“ wird nur BVDU gegeben, kein Zytostatikum.

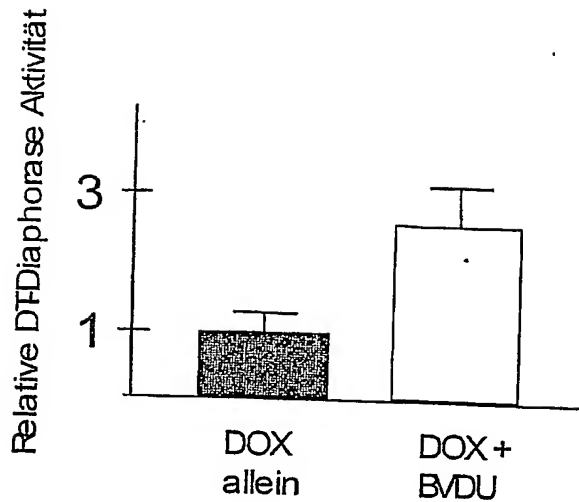
Ein entsprechendes Ergebnis wurde in den Untersuchungen mit Mitoxantron (MXA) erzielt.



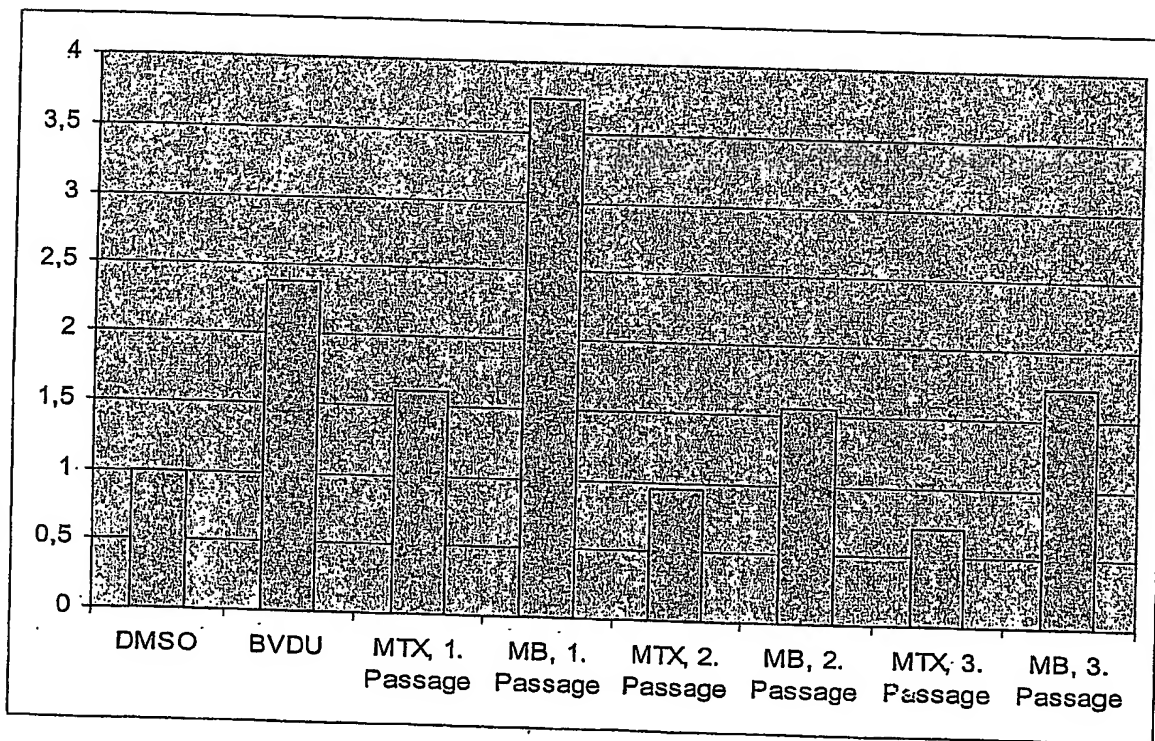
Im Versuch mit Mitomycin C (MMC) bewirkte BVDU, in der „recovery“ gegeben, eine völlige Hemmung der MMC induzierten JUN-D Überexpression auf das Kontrollniveau.

Beispiel 3:

Die Messung der DT-diaphorase (DT-D) erfolgte als Dicoumarol-inhibierbare NAD(P)H: Dichlorphenolindophenol Reduktase, wie kürzlich beschrieben (Hodnick & Sartorelli, 1997). Wir untersuchten Extrakte einer gleichen Anzahl von Zellen, die mit DOX +/- BVDU behandelt worden waren, auf DT-D-Aktivität. Mit BVDU behandelte Zellen zeigten eine annähernd dreifache DT-D Aktivität als die Zellen aus der Kontroll- oder DOX allein-Gruppe.



Entsprechende Ergebnisse wurden mit Mitoxantron (MXA) und Methotrexat (MTX) erzielt. BVDU allein erhöht die DT-D Aktivität konstant, teilweise aber nur schwach.



Die Ergebnisse mit Methotrexat (MTX) und menschlichen K562 Tumorzellen sind in obiger Abbildung aufgeführt. MB bedeutet MTX + BVDU. Passage bedeutet Verdünnung und Umsetzung der Zellen zum weiteren Wachstum. Auf der Y-Achse ist die relative DT-D Aktivität aufgezeichnet.

Beispiel 4:

Die Verringerung toxischer Nebenwirkungen von Doxorubicin (DOX) konnte im Versuch mit Ratten gezeigt werden. SD-Ratten wurden mit Dimethybenzanthrazen (DMBA) behandelt. Die hierdurch induzierten Tumoren wurden durch DOX-Behandlung (1 mg/kg) in ihrem Wachstum gehemmt. Während der Behandlung und einen Tag nach jeder Behandlung, also in der Erholungsphase (recovery phase) erhielten die Tiere jeweils 15 mg/kg BVDU.

Durchschnitt der Daten von 5-8 Ratten	Relative Tumor- größe Tag 1	relatives Tier- gewicht Tag 1	Relative Tumorgröße Tag 16	relatives Tiergewicht Tag 16
Kontrolle	1	0	6	+ 7 %
DOX allein	1	0	1.5	- 7 %
DOX + BVDU	1	0	1	+ 7 %

Beispiel 5:

Auflistung der durch die Behandlung mit Basenanaloga und Mitomycin C beeinflussten Proteine. Die Ergebnisse der Durchführung einer zweidimensionalen Gelelektrophorese sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Protein	DMSO Kontrolle	BVDU allein
DEAD/H BOX 1; DDX1	0.88	0.332
	MMC allein	MMC + BVDU
MALATE DEHYDROGENASE, SOLUBLE; MDH1	0.418	1.359
MYOSIN, HEAVY CHAIN 1, NEURONAL SIMILARITY, ADULT; MYH1	0.182	0.588
UBIQUITIN-CONJUGATING ENZYME E2N; UBE2N	0.669	0.178
APURINIC ENDONUCLEASE; APE; APE1; APEX	0.363	0.14
	MMC "recovery", Weiterkultivierung ohne MMC und BVDU	MMC + BVDU "recovery", Weiterbehandlung durch BVDU allein
PLATELET-ACTIVATING FACTOR ACETYLHYDROLASE, ISOFORM 1B, ALPHA SUBUNIT; PAFAH1B1	0.219	0.619
U5 snRNP-SPECIFIC PROTEIN, 116-KD	0.2	0.523
HEMOGLOBIN-BETA LOCUS; HBB	0.088	0.502
HEMOGLOBIN-ALPHA LOCUS 1; HBA1	0.054	0.316
ACTIN, BETA; ACTB	0.163	0.451
Similar to BETA-ACTIN	0.096	0.357
ACTIN like	0.112	0.398
TROPOMODULIN 2; TMOD2	0.095	0.28
SUCCINATE DEHYDROGENASE COMPLEX, SUBUNIT A, FLAVOPROTEIN; SDHA	0.255	abwesent
PYRUVATE DEHYDROGENASE COMPLEX, E1-ALPHA POLYPEPTIDE 1; PDHA1	1.751	0.533
TUBULIN, BETA-5	4.705	1.553
POLY(rC)-BINDING PROTEIN 2; PCBP2	0.912	0.234
MALIC ENZYME 2; ME2	0.972	0.322
Mini chromosome maintenance deficient 7; MITOTIN, CELL DIVISION CYCLE-LIKE 1; CDCL1	0.374	0.119

Literaturzitate

Grusch, M., Fritzer-Szekeres, M., Fuhrmann, G., Rosenberger, G., Luxbacher, C., Elford, H. L., Smid, K., Peters, G. J., Szekeres, T., & Krupitza, G. 2001. Activation of caspases and induction of apoptosis by novel ribonucleotide reductase inhibitors amidox and didox. *Exp Hematol*, 29(5): 623-632.

Hodnick, W. F. & Sartorelli, A. C. 1997. Measurement of dicumarol-sensitive NADPH: (menadione-cytochrome c) oxidoreductase activity results in an artifactual assay of DT-diaphorase in cell sonicates. *Anal Biochem*, 252(1): 165-168.

Sambrook, J. & Russell, D. W. 2001. Molecular Cloning (3rd ed.). Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Ansprüche

1. Methode zur Verstärkung der apoptotischen Wirkung von Zytostatika ohne Erhöhung toxischer Nebenwirkungen durch
 - a) Hemmung der Überexpression von Zellproliferationsgenen wie DDX1,
 - b) Hemmung der Überexpression von DNA-Reparaturgenen wie UBE2N oder APEX,
 - c) Hemmung der Überexpression von Onkogenen wie STAT3 oder JUN-D,
 - d) Hochregulierung von mikrofilament- oder mikrofilament-regulatorischen Proteinen wie Actin, Tubulin, Myosin oder Tropo-Modulin,
 - e) Herunterregulierung von Proteinen, die in ATP Generierung involviert sind, wie Succinat Dehydrogenase oder Pyruvat Dehydrogenase,
 - f) Hochregulierung der DT-Diaphorase.
2. Verwendung von Basenanaloga nach der Chemotherapie in der Erholungsphase.
3. Verwendung von BVDU nach der Chemotherapie in der Erholungsphase.
4. Verwendung von Basenanaloga als Kobehandlung bei der Chemotherapie.
5. Verwendung von BVDU als Kobehandlung bei der Chemotherapie.
6. Verwendung von Kobehandlung bei der Chemotherapie, wobei Chemotherapie definiert ist als Behandlung mit einem oder mehreren beliebigen Zytostatika.
7. Verwendung von Basenanaloga in einer Konzentration, die einen Blutspiegel von 0.02 bis 50 µg/ml erreichen lässt.
8. Verwendung von BVDU in einer Konzentration, die einen Blutspiegel von 0.02 bis 50 µg/ml erreichen lässt.

This Page is inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLORED OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REPERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents *will not* correct images problems checked, please do not report the problems to the IFW Image Problem Mailbox